

Requested Patent: JP5249104A
Title: PRESERVING METHOD FOR CELL IN URINE ;
Abstracted Patent: JP5249104 ;
Publication Date: 1993-09-28 ;
Inventor(s): MIYAJI NOBORU; others: 01 ;
Applicant(s): KYOTO IKAGAKU KENKYUSHO.KK ;
Application Number: JP19920048156 19920305 ;
Priority Number(s): ;
IPC Classification: G01N33/48; G01N33/493 ;
Equivalents: JP2603576B2 ;

ABSTRACT:

PURPOSE:To obtain accurate inspected results by preserving collected sample urine so that the number and nature of cells coming off or leaking out from a living body into the urine cannot change.

CONSTITUTION:Collected sample urine is preserved after the pH of the urine is adjusted to 4.5-6.5 by adding various kinds of acids and an antibacterial medicine and fluorine compound are added to the urine. It is preferable to use citric acid as the acid, EDTA as the antibacterial medicine, and NaF (sodium fluoride) as the fluorine compound, with the recommendable adding rate of NaF being 1mg per 1m of urine. It is convenient to use a sample collecting tube containing granulated powder of mixed medicines put in the tube in advance at the time of collecting the sample urine.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-249104

(43) 公開日 平成5年(1993)9月28日

(51) Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/48	P	7055-2 J		
33/493	Z	7055-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全 3 頁)

(21) 出願番号	特願平4-48156	(71) 出願人	000141875 株式会社京都医科学研究所 京都府京都市伏見区羽東師古川町328番地
(22) 出願日	平成4年(1992)3月5日	(72) 発明者	宮地 登 京都府長岡京市奥海印寺台田2番地の2
		(72) 発明者	内田 孝夫 神戸市東灘区湊森台2-5-108
		(74) 代理人	弁理士 田中 理夫

(54) 【発明の名称】 尿中の細胞保存方法

(57) 【要約】

【目的】 尿中に生体から剥離或いは漏出した細胞の散おおよび性質が変化しないように採取した尿試料を保存して正確な検査結果を得ることを目的とする。

【構成】 採取した試料尿に各種酸を加えて該試料尿のpHを4.5～6.5に調整し、抗菌性薬剤とフッ素化合物を添加して保存する。酸としてクエン酸、抗菌性薬剤としてEDTA、フッ素化合物としてNaF（フッ化ナトリウム）が良く、特にNaFは尿1mlあたり1mg以上を添加する。その場合に予め顆粒状の混合薬剤を投入した試料採取管を用いて試料を採取すると便利である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 尿中の細胞を計測或いは診断する際に、採取した試料尿に各種酸を加えて該試料尿のpHを4.5～6.5に調整し、抗菌性薬剤とフッ素化合物を添加することを特徴とする尿中の細胞保存方法

【請求項2】 酸としてクエン酸を用いることを特徴とする請求項1記載の尿中の細胞保存方法

【請求項3】 抗菌性薬剤としてEDTA・2Naを0.4～4.0 mg/ml（尿あたり）混合することを特徴とする請求項1もしくは2記載の尿中の細胞保存方法

【請求項4】 フッ素化合物としてNaF（フッ化ナトリウム）を1 mg/ml（尿当たり）以上、もしくは有機酸塩を等量換算で同等の濃度になるように添加することを特徴とする請求項1～3記載の尿中の細胞保存方法

【請求項5】 尿試料採取管に顆粒状のクエン酸、EDTA・2Na、NaFを適量に混合した薬剤を投入しており、得られた尿試料を保存することを特徴とする請求項1～4記載の尿中の細胞保存方法

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は尿中に剥離或いは漏出した細胞を計測、診断する際に採取後の尿中細胞の量、質の変化を防止して正確な計測値、診断を得るための試料の保存方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 尿中の細胞は腎臓、尿路系の疾患を診断する上で非常に重要な臨床検査対象である。この細胞検査は尿中の細胞を計測し或いは顕微鏡で観察して悪性か否かを判定するものである。ところが採取した試料尿をそのまま室温で放置すると尿中の細胞は低栄養状態に至り、栄養を補給するために自己消化（自己溶解）を起こし、或いは尿に含まれる微生物によって破壊され、細胞数の減少と変性が生ずることは良く知られている。

【0003】 尿中の細胞が変性すると顕微鏡観察による悪性か否かの診断、すなわち細胞診の際の判定が困難となる。この判定のしやすさの程度を下記のような基準で5段階の判定度数として示すことが行われている。

1. 変性が強く細胞診として判定できない
2. 変性やや強く判定しにくい
3. 変性はあるが判定可能
4. 変性少なく判定可能
5. 変性無く判定可能

本発明者らの実験によると尿試料を室温で長時間保存すると、顕微鏡の視野での細胞数が顕著に減少しており、また細胞診の判定度数が3以下に低下する。そして判定度数が3以下の場合は細胞の殆どが変性しており、細胞中の食作用空間がかなり広がっているのが認められた。

【0004】 また尿試料を採取する場合に適時に採取して各尿試料を用いる逐次尿法と一日の尿を蓄積して用いる蓄尿法があるが、従来から前記の細胞数の減少および

変性を阻止する方法として以下の方法が提案されていた。

【0005】 逐次尿においては、

(1) 採取直後に遠心分離し、残渣に固定液としてホルムアルデヒドまたはグルタールアルデヒド等を加える。

(2) 保存剤としてクエン酸-EDTAを加える（特願平2-90638号の方法）。

(3) 採取直後に低温室に入れて低温に保持する。

【0006】 蓄尿においては、下記(1)～(4)のように防腐剤を加えたり或いは(5)のように低温に保持したする。すなわち

(1) トルエンまたはキシロールを2～3 ml/lを加え、時々攪拌混合する

(2) 中性ホルマリンを5～10 ml/l 加える

(3) クロロヘキシジンの5%溶液を5 ml/l 加える

(4) 市販のほう酸またはパラホルムアルデヒド錠剤を加える

(5) 低温室に入れて低温に保持する

【0007】 しかし逐次尿、蓄尿に対する、いずれの方法も採取直後の作業が厄介であり、また低温に保持する方法は輸送、保存が厄介であるとの理由で実際には用いられていない。

【0008】 逐次尿に対する(1)の方法、蓄尿に対する(1)～(4)の方法では人体に対し非常に危険性の高い毒性物質を用いねばならない。また逐次尿の(1)の方法では細胞数の計測には耐えるが、診断する時に判定しにくいという欠点がある。また逐次尿の(2)の方法ではグラム陽性細菌、真核微生物に対する効力が弱い欠点がある。蓄尿の場合の(1)～(4)の方法では防腐作用として尿中の細菌の繁殖を抑制するだけであって細胞の自己消化を抑制することはできない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】 尿中の生体細胞が破壊、変性する原因は次の2つである。即ち1つには尿に常在または病的に存在する細菌が繁殖して細胞に直接付着またはその毒素により生体細胞を破壊すること、2つには生体から剥離または漏出した細胞は代謝作用を継続して行っており、低栄養時に細胞内の食作用空間で自己を消化して代謝に必要な栄養補給を行い、やがて自己溶解することである。現状では、この両方の作用を阻止し、且つ厄介な手間を掛けず、安全である保存方法がないという課題があった。

【0010】

【課題を解決するための手段】 このような実情に鑑み本発明者らは従来の尿中の細胞保存方法の欠点を解消すべく鋭意研究の結果、本発明者らの発明した特願平2-90638号に示された、尿試料に緩衝剤、例えばクエン酸を添加して尿を低pHに保持し、さらに抗菌性薬剤、例えばEDTAを主成分とした薬剤を加えて尿中細胞を保存する方法に加えて、さらにフッ素化合物、例えばN

3

a F (フッ化ナトリウム)を或る濃度以上になるように併用すると尿中のグラム陽性菌、真菌の増殖を抑制し、尿細胞の変性と減少を防止することができることを発見して本発明をなしたものである。

【0011】すなわち本発明は尿中の細胞を計測及び診断する際に、採取した試料尿を各種酸を用いてpHを4.5～6.5に調整して細胞自身の代謝および微生物の代謝、増殖を抑制し、さらに抗菌性薬剤であるEDTAおよびフッ素化合物を等量換算でNaF (フッ化ナトリウム)を尿1mlあたり1mg添加した場合と同等以上の濃度10
になるようにを添加して微生物の増殖抑制効果を高めることにより細胞の保存効果を高めた尿中の細胞保存方法である。

【0012】従来からフッ素化合物は微生物の増殖抑制剤および抗菌剤として知られているが、尿をpHを低pH (酸性化)させた条件下では、等量換算で、例えばNaFで尿1mlあたり1mgの濃度、以上の濃度になるようにフッ素化合物の濃度を設定すると初めてフッ素化合物が細菌をはじめとする微生物の増殖抑制作用が有効に発揮されるのである。

【0013】尿のpHは通常4.5～10.0と広い範囲であるが、本発明では酸を緩衝剤として加えてpHを4.5～6.5になるように調整する。酸は無機酸、有機酸いずれでも良い。特にクエン酸は粉末状として予め採取管に投入しておくことができて便利である。また抗菌性薬剤としてEDTA・2Naを併用すると尿中の細胞の保存効果が向上するが、EDTA・2Naは0.4～4.0mg/ml (尿当たり)の量で実効を有するものである。

4

【0014】本発明を実施するにはクエン酸、EDTA・2Na、とNaFを、例えば顆粒状製剤、凍結乾燥製剤とし、それを混合した薬剤を尿採取試験管に予め規定量だけ投入しておき、これに尿を該試験管に規定量採取し、そのまま保存して細胞の計測及び診断を行えばよい。

【0015】

【実施例】

1. 試料採取管に尿を採取して、クエン酸4mg/ml (尿当たり)、EDTA・2Naを3mg/ml (尿当たり)、及びNaFを1mg/ml (尿当たり)を添加して混合した。用いた尿のpHは6.6であり、添加後はpHは5.0となった。この尿試料を25℃に保持して12時間毎の細胞数を測定し、また細胞を顕微鏡で観察して診断して前述の5段階判定度数を用いて評価したところ、24時間後まで変化が起らなかった。48時間後には細胞数は4%しか低下せず、判定度数は4までの低下であった。

【0016】

【発明の効果】以上に詳しく説明したように本発明は尿中の細胞を計測、診断する際に、採取尿試料に緩衝剤として酸、特にクエン酸を添加して尿のpHを4.5～6.5に調整するとともにEDTA・2NaおよびNaFを添加して細菌をはじめとする微生物の増殖を抑制して尿中の細胞を保存する方法であり、試料尿採取後の計測、診断までに数十時間保存しても正確な計測値と診断が得られるものであり、尿の血液細胞数、腎尿路系細胞数の計測検査、および細胞診断検査特に大量の試料を検査する場合に非常に大きな効果を有する方法である。